

HPLC法测定复方芩苍鼻喷雾剂中黄芩苷的含量

韩宪忠*, 金蜀蓉#, 柯昌毅, 谢剑锋(重庆市第三人民医院, 重庆 400014)

中图分类号 R283.61;R927.2 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2013)07-0644-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2013.07.25

摘要 目的:建立测定复方芩苍鼻喷雾剂中黄芩苷含量的方法。方法:采用高效液相色谱法。色谱柱为 Waters Symmetry C₁₈ (150 mm×4.6 mm, 5 μm), 流动相为甲醇-水-磷酸(47:53:0.2, V/V/V), 流速为 1.0 ml/min, 检测波长为 280 nm, 柱温为 20 ℃。结果:黄芩苷的质量浓度在 6.2~310.0 μg/ml 范围内与峰面积积分值呈良好线性关系($r=0.9993$);平均加样回收率为 98.72%, RSD=0.89% ($n=9$)。结论:本方法简便、快速、准确、重复性好,可用于复方芩苍鼻喷雾剂中黄芩苷的含量测定。

关键词 复方芩苍鼻喷雾剂;高效液相色谱法;黄芩苷;含量测定

Content Determination of Baicalin in Compound Qincang Nasal Sprays by HPLC

HAN Xian-zhong, JIN Shu-rong, KE Chang-yi, XIE Jian-feng (Chongqing Third People's Hospital, Chongqing 400014, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To establish a method for the content determination of baicalin in Compound qincang nasal sprays. METHODS: HPLC method was adopted. The determination was performed on Waters Symmetry C₁₈ (150 mm×4.6 mm, 5 μm) column with mobile phase consisted of methanol-water-phosphoric acid (47:53:0.2, V/V/V) at the flow rate of 1.0 ml/min. The detection wavelength was set at 280 nm and column temperature was 20 ℃. RESULTS: The linear range of baicalin was 6.2-310.0 μg/ml ($r=0.9993$) with an average recovery of 98.72% (RSD=0.89%, $n=9$). CONCLUSION: The method is simple, rapid, accurate and reproducible, and it is suitable for the content determination of baicalin in Compound qincang biyan sprays.

KEY WORDS Compound qincang nasal sprays; HPLC; Baicalin; Content determination

鼻炎是发生在鼻腔黏膜的炎性疾病,为耳鼻喉科常见病、多发病。其临床症状主要表现为鼻内发痒、打喷嚏、流清鼻

涕、鼻塞等,严重影响患者的生活质量^[1]。古方“苍耳散”具有散风祛湿、通九窍、抗菌等作用,治疗鼻炎效果显著^[2]。笔者

表3 阿胶中各脂肪酸的百分含量(%)

Tab 3 The percentage of fatty acids in *E. asinus* (%)

样品	棕榈酸	硬脂酸	油酸	亚油酸	亚麻酸
阿胶(豆油)	23.21	11.88	42.82	19.66	2.43
阿胶(核桃油)	21.17	8.98	41.70	24.41	3.74
阿胶(豆油+核桃油)	20.08	8.69	41.79	25.78	3.65

表3表明,阿胶(豆油)中不饱和脂肪酸的百分含量为64.91%,阿胶(核桃油)中不饱和脂肪酸的百分含量为69.85%,阿胶(豆油+核桃油)中不饱和脂肪酸的百分含量为71.22%,尤其是亚油酸和亚麻酸的百分含量有了提高。

3 讨论

阿胶中成分复杂,样品上GC仪后出峰很多,但棕榈酸、硬脂酸、油酸、亚油酸和亚麻酸仍是最主要的峰。试验结果表明,使用传统法制得的阿胶,不饱和脂肪酸的百分含量约为65%,而加入核桃油后,不饱和脂肪酸的百分含量提高至约70%,尤其是亚油酸和亚麻酸的百分含量有了提高。

阿胶作为传统补血圣药,广为人们接受。本试验结果表明,在阿胶的制备过程中使用核桃油代替豆油,可提高阿胶中

不饱和脂肪酸的百分含量,尤其可提高亚油酸和亚麻酸的百分含量,起到更好的防治高血脂和高胆固醇血症、提供人体所必需的EPA和DHA等的作。

综上所述,本方法准确、灵敏,可用于阿胶中脂肪酸的含量测定。

参考文献

- [1] 鄢丹,韩玉梅,董小萍. 反相高效液相色谱-蒸发光散射检测法同时测定阿胶中的17种未衍生氨基酸[J]. 色谱, 2006, 24(4): 359.
- [2] 刘文义,王莉丽. 阿胶补益成分分析方法的研究进展[J]. 齐鲁药事, 2009, 28(11): 682.
- [3] 杨明义. 核桃油中脂肪酸含量的测定[J]. 大连民族学院学报, 2006, 8(1): 95.
- [4] 刘丹,韩飞,礼嵩,等. 毛细管GC法同时测定鸦胆子油注射液4种脂肪酸的含量[J]. 中国药房, 2012, 23(4): 364.
- [5] 陈雅,孟德胜,吴畏,等. 气相色谱法测定松籽油中 γ -亚麻酸的含量[J]. 中国药房, 2006, 17(5): 377.
- [6] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:二部[S]. 2010年版. 北京: 中国医药科技出版社, 2010: 1 183.

(收稿日期:2012-03-02 修回日期:2012-05-28)

* 药师, 硕士。研究方向: 中药制剂及临床药学。电话: 023-63501082。E-mail: Hxz5981@163.com

通信作者: 主任药师。研究方向: 医院药学和临床药学。电话: 023-63501082。E-mail: jsr6578@163.com

根据临床需要,结合现代中医药理论,参考古方“苍耳散”与“鼻康合剂”处方并进行加减,重新组方并精制成了复方苍耳鼻喷雾剂。为保证该制剂的质量,本试验建立了复方苍耳鼻喷雾剂中黄芩苷的含量测定方法。

1 材料

1.1 仪器

Waters 高效液相色谱(HPLC)仪,含 1525 二元泵、2487 双波长紫外检测器、717 自动进样器、Breeze 色谱工作站(美国 Waters 公司);AR1140 电子天平[梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司];KQ-500 超声波清洗机(昆山市超声仪器有限公司,功率:500 W,频率:40 kHz)。

1.2 药品与试剂

复方苍耳鼻喷雾剂(重庆市第三人民医院自制,批号:110112、110113、110119);黄芩苷对照品(中国食品药品检定研究院,批号:110715-200815);甲醇为色谱纯,水为重蒸馏水,其他试剂均为分析纯。试验前所有液体试剂均经 0.45 μm 微孔滤膜滤过。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱:Waters Symmetry C₁₈(150 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相:甲醇-水-磷酸(47:53:0.2, V/V/V);检测波长:280 nm;流速:1.0 ml/min;柱温:20 $^{\circ}\text{C}$;进样量:10 μl 。

2.2 对照品溶液的制备

精密称取黄芩苷对照品 3.10 mg,置于 10 ml 量瓶中,用少量甲醇经超声溶解并稀释至刻度,摇匀,即得 310 $\mu\text{g/ml}$ 的对照品贮备液。再精密量取该贮备液 2 ml,置于 10 ml 量瓶中,用甲醇稀释至刻度,即得 62 $\mu\text{g/ml}$ 的对照品溶液。

2.3 供试品溶液的制备

精密量取本品 2 ml,置于 100 ml 量瓶中,用 70% 乙醇稀释至刻度,摇匀,精密量取 10 ml,置于 50 ml 量瓶中,用 70% 乙醇稀释至刻度,摇匀,经 0.45 μm 微孔滤膜滤过,即得。

2.4 阴性对照溶液的制备

以相同处方比例的空白辅料制得空白样品,照“2.3”项下方法制备阴性对照溶液,即得。

2.5 系统适用性试验

取“2.2”项下对照品贮备液,按“2.1”项下色谱条件进样 10 μl ,记录色谱图。结果,理论板数按黄芩苷峰计算应为 4 564,表明柱效良好。

2.6 检测波长的选择

参照 2010 年版《中国药典》(一部)黄芩药材的含量测定方法,选择 280 nm 为检测波长。

2.7 专属性试验

取上述对照品、供试品、阴性对照溶液各适量,按“2.1”项下色谱条件注入 HPLC 仪,绘制色谱图。结果显示,阴性对照在与黄芩苷对照品色谱图相应位置上未见干扰;供试品在与对照品色谱图相应保留时间位置上有相应的色谱峰,并且与相邻峰有较好的分离。色谱见图 1。

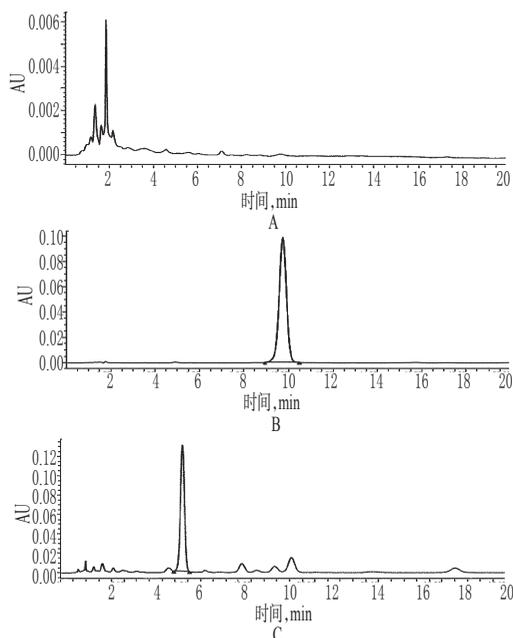


图 1 高效液相色谱图

A. 阴性对照;B. 黄芩苷对照品;C. 供试品

Fig 1 HPLC chromatograms

A. negative control; B. baicalin control; C. test sample

2.8 线性关系考察

分别精密量取质量浓度为 310 $\mu\text{g/ml}$ 的黄芩苷对照品贮备液 0.2、1.0、2.0、4.0、6.0、10.0 ml,置于 10 ml 量瓶中,加流动相至刻度,摇匀,即得质量浓度分别为 6.2、31.0、62.0、124.0、310.0 $\mu\text{g/ml}$ 的系列溶液,按“2.1”项下色谱条件分别进样 10 μl ,测定峰面积。以黄芩苷进样量(x)为横坐标,峰面积积分值(y)为纵坐标,进行线性回归,得回归方程为 $y=40\ 248x-72\ 915$ ($r=0.999\ 3$, $n=6$)。结果表明,黄芩苷的质量浓度在 6.2~310.0 $\mu\text{g/ml}$ 范围内与峰面积积分值呈良好线性关系。

2.9 精密度试验

精密吸取黄芩苷对照品溶液(62 $\mu\text{g/ml}$)连续进样 6 次,每次 10 μl ,记录色谱图。结果, $\text{RSD}=1.04\%$ ($n=6$),表明仪器精密度良好。

2.10 重复性试验

精密量取同一批样品 2 ml,共 6 份,分别置 100 ml 量瓶中,照“2.3”项下方法制备供试品溶液,按拟定方法进行含量测定。结果,样品中黄芩苷的平均质量浓度为 24.60 $\mu\text{g/ml}$, $\text{RSD}=1.69\%$ ($n=6$),表明本方法重复性良好。

2.11 稳定性试验

精密量取同一供试品溶液适量,分别于 0、4、8、16、24 h 时按拟定方法进样测定。结果, $\text{RSD}=0.56\%$ ($n=5$),表明供试品溶液在 24 h 内稳定性良好。

2.12 加样回收率试验

取已知黄芩苷含量的同一批样品 0.1 ml,共 9 份,每 3 份为一组,分别按低、中、高质量浓度精密加入黄芩苷对照品贮备液各适量,照“2.3”项下方法制备供试品溶液,按拟定方法测定含量,计算加样回收率,结果见表 1。

表1 加样回收率试验结果(n=9)

Tab 1 Results of recovery test(n=9)

编号	样品含量,mg	加入量,mg	测得量,mg	回收率,mg	\bar{x} ,%	RSD, %
1	2.46	1.97	4.40	98.48		
2	2.46	1.97	4.38	97.46		
3	2.46	1.97	4.41	99.09		
4	2.46	2.46	4.88	98.37		
5	2.46	2.46	4.91	99.59	98.72	0.89
6	2.46	2.46	4.86	97.56		
7	2.46	2.95	5.38	98.98		
8	2.46	2.95	5.42	100.34		
9	2.46	2.95	5.37	98.64		

2.13 样品含量测定

取3批样品各适量,分别照“2.3”项下方法制备供试品溶液,各取10 μ l,按“2.1”项下色谱条件进样测定,分别进样3次,记录色谱图,并以外标法计算样品中黄芩苷的质量浓度,结果见表2。

表2 样品含量测定结果(n=3)

Tab 2 Content determination of samples(n=3)

批号	黄芩苷质量浓度,mg/ml
110112	24.6
110113	24.6
110119	24.7

3 讨论

HPLC法分离效能高、分析速度快、应用范围广,其重现性和准确度均优于薄层色谱扫描法,现已作为中药及其制剂的常规含量测定方法^[3]。黄芩苷为含羟基的黄酮类化合物^[4],极性较大。笔者通过对文献报道的多种流动相进行试验,并参考2010年版《中国药典》^[5],以甲醇-水-磷酸(47:53:0.2, V/V/V)为流动相,其中磷酸可作为解离抑制剂,抑制组分解离,增强保留^[6]。该条件下黄芩苷峰与相邻峰能较好的分离,对称性好,故选用此流动相。

试验中发现,温度对黄芩苷的保留时间有一定影响:当温度在20 $^{\circ}$ C左右时,黄芩苷的保留时间在10.2 min左右;当温度在30 $^{\circ}$ C左右的时候,黄芩苷的保留时间会降至7.6 min左右。Yang Y等^[7]发现随着柱温的升高,极性和非极性物质的保留因子都减小。因此,为了保证色谱峰出峰时间的一致性,如没有温箱,应尽量保证柱温的相对一致性,以减少由于温差造成保留时间的较大变化。

试验结果表明,本方法简便、快速、准确、重复性好,可用于复方苍芩鼻喷雾剂中黄芩苷的含量测定和该制剂的质量控制。

参考文献

- [1] 张罗,韩德明,王琪,等.鼻炎概述[J].中国耳鼻咽喉头颈外科,2007,14(1):19.
- [2] 李宏伟.辛夷苍耳散加减治疗急性慢性鼻窦208例观察[J].中国社区医师,2010,13(12):123.
- [3] 黄其春,徐文升.HPLC法测定痰热清注射液中黄芩苷的含量[J].中国药房,2008,19(30):2388.
- [4] 江纪武,肖庆祥.植物有效成分手册[M].北京:人民卫生出版社,1986:111.
- [5] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:一部[S].2010年版.北京:中国医药科技出版社,2010:391.
- [6] 李发美.分析化学[M].6版.北京:人民卫生出版社,2008:398.
- [7] Yang Y, Jones AD, Eaton CD. Reentry behavior of phenols, anilines, and alkylbenzenes in liquid chromatographic separations using subcritical water as the mobile phase[J]. *Anal Chem*, 1999, 71(17):3808.

(收稿日期:2012-05-28 修回日期:2012-11-01)

2013年全国中医药工作会议在京召开

本刊讯 2013年1月10日,全国中医药工作会议在京召开。卫生部党组书记、副部长张茅,卫生部副部长、国家中医药管理局局长王国强,国家中医药管理局副局长吴刚、于文明、李大宁、马建中,局党组成员王志勇,总后卫生部副部长李清杰出席会议。会上,张茅指出,实践证明,在“医改”中发挥中医药作用,有利于促进“医改”目标的实现,促进基本医疗卫生制度的构建。当前,中医药事业发展进入了新的历史阶段,中医药系统要以党的“十八大”精神为引领,在深化“医改”中更充分地发挥好中医药作用,开创中医药工作新局面。

张茅说,长期以来,中医和西医相互补充,共同发展,共同担负着维护和增进人民健康的作用,这是我国医药卫生事业的重要特征和显著优势。党中央和国务院高度重视中医药事

业发展,中医药工作近年来取得了长足进步:以人为本的发展理念更加坚定,全面协调的发展思路更加清晰,注重发挥特色优势的发展方式更加突出,发展氛围和环境更加有利,发展成效更加明显,惠及更多民众。

张茅还指出,党的“十八大”报告作出了我国已经进入全面建成小康社会关键性阶段的基本判断,部署了2020年全面建成小康社会的目标和任务,把提高人民健康水平作为深入贯彻落实科学发展观、全面建成小康社会的一项重要任务,确定了卫生改革发展的总布局和总思路,强调了坚持为人民健康服务的改革方向,重申了预防为主、以农村为重点、中西医并重的工作方针和保基本、强基层、建机制的基本原则。在全面建成小康社会的进程中,中医药大有作为,大有可为。